

Patent Abstracts of Japan

PUBLICATION NUMBER : 63135395
PUBLICATION DATE : 07-06-88

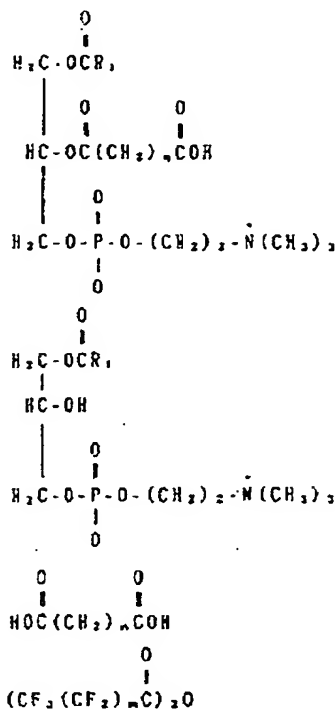
APPLICATION DATE : 28-11-86
APPLICATION NUMBER : 61281686

APPLICANT : NIPPON OIL & FATS CO LTD;

INVENTOR : NAKAYAMA MASA HARU;

INT.CL. : C07F 9/10 // A61K 31/685

TITLE : PHOSPHOLIPID DERIVATIVE AND
PRODUCTION THEREOF



ABSTRACT : NEW MATERIAL: A compound expressed by formula I (R_1 is 3~21C alkyl; n is 2~20).

EXAMPLE: 1-Palmitoyl-2-(8-carboxy)octanoyl-3-glycerophosphorylcholine.

USE: An industrially and extremely advantageous immunological activator obtainable in high yield and purity by using a readily available raw material.

PREPARATION: A 1-monoacryl-3-glycerophosphorylcholine expressed by formula II, e.g. 1-palmitoyl-3-glycerophosphorylcholine, is reacted with a dibasic acid expressed by formula III, e.g. azelaic acid, in the presence of a fluorine-substituted fatty acid anhydride expressed by formula IV (m is 0~2), e.g. trifluoroacetic acid anhydride, normally at 0~90°C for 5~48hr.

⑩ 日本国特許庁 (J P)

⑪ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報 (A)

昭63-135395

⑬ Int. Cl. 4

識別記号

庁内整理番号

⑭ 公開 昭和63年(1988)6月7日

C 07 F 9/10
// A 61 K 31/685

A B D

6917-4H
7252-4C

審査請求 未請求 発明の数 2 (全5頁)

⑮ 発明の名称 リン脂質誘導体及びその製造方法

⑯ 特 願 昭61-281686

⑰ 出 願 昭61(1986)11月28日

⑱ 発 明 者 西 郷 卓 也 茨城県筑波郡谷田部町東新井32-16番地

⑲ 発 明 者 中 山 雅 陽 茨城県新治郡桜村梅園2丁目15番5号

⑳ 出 願 人 日本油脂株式会社 東京都千代田区有楽町1丁目10番1号

㉑ 代 理 人 弁理士 舟橋 榮子

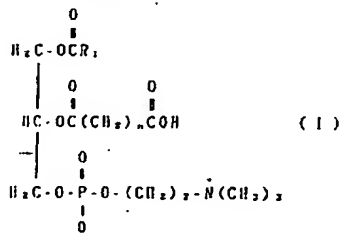
明 細 書

1. 発明の名称

リン脂質誘導体及びその製造方法

2. 特許請求の範囲

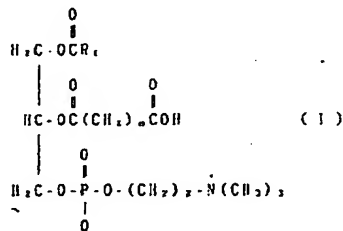
(1) 次の一般式:



(式中、R₁は炭素数3~21のアルキル基を示し、
nは2~20である。)

で表されるリン脂質誘導体。

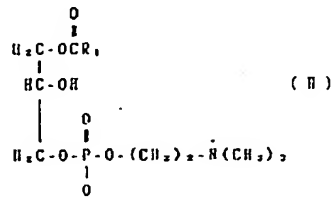
(2) 次の一般式:



(式中、R₁は炭素数3~21のアルキル基を示し、
nは2~20である。)

で表されるリン脂質誘導体を製造するにあたり、

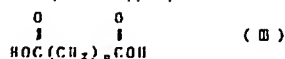
次の一般式



(式中、R₁は炭素数3~21のアルキル基を示す。)

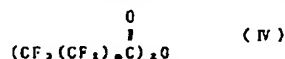
で表される1-モノアシル-3-グリセロホスホ

リルコリンと、次の一般式：



(式中、 n は 2 ～ 20 である。)

で表される二塩基酸を、次の一般式：



(式中、 m は 0 ～ 2 である。)

で表される無水フッ素置換脂肪酸の存在下で反応させることを特徴とする製造方法。

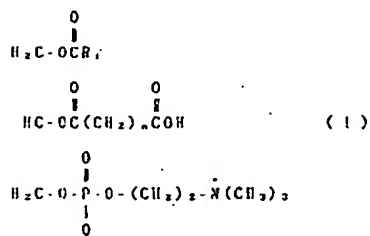
3. 発明の詳細な説明

(産業上の利用分野)

本発明は、薬理学的に有効な新規なリン脂質誘導体及びその製造方法に関する。

(従来の技術とその問題点)

細胞膜構造の脂質中には下記の構造式で表されるリン脂質化合物が多く存在しており、生体内酸化反応により式中の 2 位の不飽和炭化水素基 R_2 が種々の官能基に置換され、薬理学的に有効である化合物が生成する。

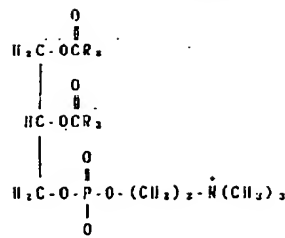


(式中、 R_1 は炭素数 3 ～ 21 のアルキル基である。また、 n は 2 ～ 20 である。)

上記式中、 R_1 は炭素数 3 ～ 21 のアルキル基を表すが、この範囲外では薬理学的な有効性に乏しい。また、 n は 2 ～ 20 であるが、この範囲外では同様に薬理学的な有効性に乏しい。

本発明のリン脂質誘導体 (I) は、以下に記載する方法によって製造することができる。

すなわち、次の一般式



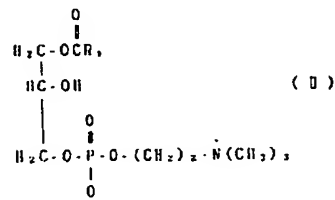
(式中、 R_2 はアルキル基を示し、 R_2 は不飽和炭化水素基を示す。)

しかしながら、これまでに式中 2 位に官能基を有するリン脂質化合物の製造に成功した報告はなされていない。

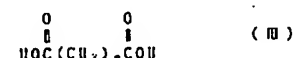
本発明の目的は、式中 2 位に官能基を有する薬理学的に有効な新規なリン脂質誘導体及びその製造方法を提供することにある。

(問題点を解決するための手段)

本発明の薬理学的に有効な新規なリン脂質誘導体は次の構造式 (I) で表されるような 2 位にカルボキシル基を有する化合物である。

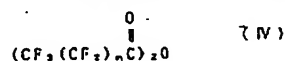


(式中、 R_1 は炭素数 3 ～ 21 のアルキル基を示す。) で表される 1-モノアシル-3-グリセロホスホリルコリンと、次の一般式：



(式中、 n は 2 ～ 20 である。)

で表される二塩基酸を、次の一般式：

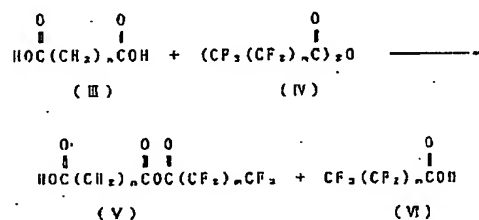


(式中、 m は 0 ～ 2 である。)

で表される無水フッ素置換脂肪酸の存在下で反応させる。

反応は、1-モノアシル-3-グリセロホスホリルコリン (II) を二塩基酸 (III) と無水フッ素

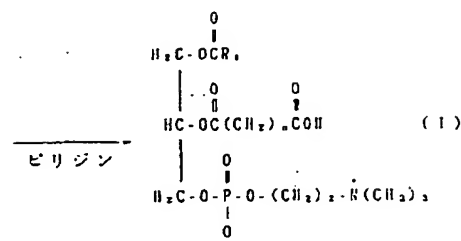
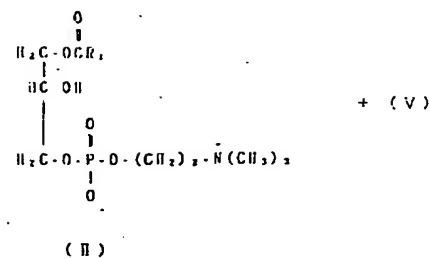
置換脂肪酸 (IV) の存在下で行われるが、この3種の化合物を同時に反応させるか、または、まず二塩基酸 (III) と無水フッ素置換脂肪酸 (IV) とを反応させて反応中間体 (V) を生成し、次いでこれと1-モノアシル-3-グリセロホスホリルコリン (II) とを反応させることにより行われる。後者の方法は、反応の中間体を一旦取り出して精製するため最終生成物の収量上がるので一層好ましい。反応温度及び反応時間は特に限定はないが、通常は0~90℃で、5~48時間である。後者の場合には例えば次の方法によって製造することができる。



反応時間は特に限定はないが、通常は0~40℃で、5~24時間である。ビリジン存在下での (V) と (II) との反応についても反応温度及び反応時間は特に限定はないが、通常は40~90℃で、10~48時間である。

1-モノアシル-3-グリセロホスホリルコリン (II) としては、例えば、1-ブチリル-3-グリセロホスホリルコリン、1-オクタノイル-3-グリセロホスホリルコリン、1-ラウロイル-3-グリセロホスホリルコリン、1-パルミトイル-3-グリセロホスホリルコリン、1-ステアロイル-3-グリセロホスホリルコリン、1-エイコサノイル-3-グリセロホスホリルコリンが挙げられる。

二塩基酸 (III) としては、コハク酸、グルタル酸、アジピン酸、ピメリン酸、スベリン酸、アゼライン酸、セバシン酸、1, 10-デカンジカルボン酸、1, 12-ドデカンジカルボン酸、1, 14-テトラデカンジカルボン酸、1, 16-ヘキサデカンジカルボン酸などがあげられる。



(式中、R₁は炭素数3~21のアルキル基を示し、nは2~20で、mは0~2である。)

なお、この反応で副生するフッ素置換脂肪酸 (VI) は減圧濃縮によって留去できる。

(III) と (IV) との反応における反応温度及び反

また、無水フッ素置換脂肪酸 (IV) としては、無水トリフルオロ酢酸、無水ペンタフルオロプロピオン酸、無水ヘプタフルオロ酸があげられる。

次にビリジン存在下での (V) と (II) との反応についても反応温度及び反応時間は特に限定はないが、通常は40~90℃で、10~48時間である。

反応終了後、反応混合物を濃縮し、残留物をシリカゲルクロマトグラフィー等の分離手段により精製して、目的化合物 (I) の純品を得ることができる。

(発明の効果)

本発明のリン脂質誘導体は新規な物質であり、免疫賦活剤としての効力を有すると考えられ、薬理学的に極めて有用な化合物である。

また、本発明の新規なリン脂質誘導体の製造方法は、薬理学的に極めて有用な化合物であるリン脂質誘導体を少ない工程数で、しかも容易に入手できる原料を使用して、高収率・高純度で得ることができ、工業的に極めて有用な製法である。

(実施例)

以下、実施例及び比較例をあげて本発明をさらに具体的に説明する。

実施例 1

攪拌子の入った 100ml 滴栓付ナス形フラスコに、アゼライン酸（純度99%）1000mg 及び無水トリフルオロ酢酸（純度99%）740mg を導入し、室温で16時間反応させた。反応終了後、副生するトリフルオロ酢酸を減圧下で留去した。次いで、1-バルミトイル-3-グリセロホスホリルコリン 600mg をピリジン（純度99%）8ml に懸濁し、この懸濁液を先の反応容器に加え、80℃で16時間反応させた。

反応終了後、反応混合物を濃縮し、残留物をクロロホルムに溶解し、シリカゲル薄層クロマトグラフィー（展開液：クロロホルム：メタノール：酢酸：水=50：25：8：4（容積比））で分離した。そしてR_f値0.51のスポットを分取し、メタノールで抽出した。抽出液を濃縮後、酢酸を除去するためにn-ヘキサンを加えて濃縮した。残留物をクロロホルムに溶解し、不溶物を濾過で除去

した後、再度濃縮した。さらに残留物を水に溶解させて凍結乾燥を行い、パウダー状の1-バルミトイル-2-(8-カルボキシル)オクタノイル-3-グリセロホスホリルコリン 210mg（収率26.1%）を得た。

マススペクトル、赤外スペクトル及び元素分析の結果は次の通りであった。

マススペクトル(m/z) : 666 (M⁺+H)

赤外スペクトル : 2900cm⁻¹ (カルボキシルOH 伸縮振動)

元素分析 : C₃₃H₆₀N_{0.5}O₁₀P として

(計算値) : C 59.55%, H 9.62%,

N 2.11%, P 4.66%

(実測値) : C 59.05%, H 9.51%,

N 2.15%, P 4.69%

なお、リン脂質の2位の炭素のエステル結合を特異的に分解する酵素を用いて、2位の炭素に結合した基を確認した。

実施例 1 で合成した化合物 100mg を、へび毒ホスホリバーゼ A₂ (naja naja venom ; SIGMA Chem.

Corp.) 0.3mg、5%CaCl₂水溶液 0.1ml 及びエチルエーテル10ml の混合液に加え、室温で1晩攪拌して反応させた。反応後、シリカゲル薄層クロマトグラフィー（展開液：クロロホルム：メタノール：酢酸：水=50：25：8：4（容積比））で分離した。R_f値0.90付近の脂肪酸成分のスポットを分取してメタノールで抽出した。この脂肪酸成分を常法によりメチルエステル化した後ガスクロマトグラフィーで分析した結果、標品のアゼライン酸ジメチルエステルと同じピークが95.3%の純度で得られた。

以上の分析結果より、1-バルミトイル-2-(8-カルボキシル)オクタノイル-3-グリセロホスホリルコリンが合成されていることが確かめられた。

実施例 2

アゼライン酸のかわりに1,16-ヘキサデカンジカルボン酸（純度99%）1670mg を、また1-バルミトイル-3-グリセロホスホリルコリンのかわりに1-ステアロイル-3-グリセロホスホ

リルコリン 635mg を用いた以外は、実施例 1 に述べた方法と同様の条件で反応させ、シリカゲル薄層クロマトグラフィーで分離した。そしてR_f値0.55のスポットを分取し、メタノールで抽出した。

以下、実施例 1 に述べた方法と同様の方法で操作して、パウダー状の1-ステアロイル-2-(17-カルボキシル)ヘプタデカノイル-3-グリセロホスホリルコリン 220mg（収率22.2%）を得た。

マススペクトル、赤外スペクトル及び元素分析の結果は次の通りであった。

マススペクトル(m/z) : 820 (M⁺+H)

赤外スペクトル : 2900cm⁻¹ (カルボキシルOH 伸縮振動)

元素分析 : C₄₄H₈₈N_{0.5}O₁₀P として

(計算値) : C 64.47%, H 10.50%,

N 1.71%, P 3.79%

(実測値) : C 64.77%, H 10.61%,

N 1.68%, P 3.75%

なお、リン脂質の2位の炭素のエステル結合を

特異的に分解する酵素を用いて、2位の炭素に結合した基を実施例1と同様に確認した。

実施例2で合成した化合物 100mgを、へび毒ホスホリパーゼA₂(naja naja venom: SIGMA Chem. Corp.) 0.3mg、5%CaCl₂水溶液 0.1ml及びエチルエーテル10mlの混合液に加え、室温で1晩攪拌して反応させた。反応後、シリカゲル薄層クロマトグラフィー(展開液: クロロホルム: メタノール: 酢酸: 水 = 50: 25: 8: 4 (容積比))で分離した。R_f値0.90付近の脂肪酸成分のスポットを分取してメタノールで抽出した。この脂肪酸成分を常法によりメチルエステル化した後ガスクロマトグラフィーで分析した結果、標品の1, 16-ヘキサデカンジカルボン酸ジメチルエステルと同じピークが97.1%の純度で得られた。

以上の分析結果より、1-ステアロイル-2-(17-カルボキシル)ヘプタデカノイル-3-グリセロホスホリルコリンが合成されていることが確かめられた。

実施例3

(実測値): C 55.85%, H 8.65%,
N 2.45%, P 5.50%

なお、リン脂質の2位の炭素のエステル結合を特異的に分解する酵素を用いて、2位の炭素に結合した基を確認した。

実施例3で合成した化合物 100mgを、へび毒ホスホリパーゼA₂(naja naja venom: SIGMA Chem. Corp.) 0.3mg、5%CaCl₂水溶液 0.1ml及びエチルエーテル10mlの混合液に加え、室温で1晩攪拌して反応させた。反応後、シリカゲル薄層クロマトグラフィー(展開液: クロロホルム: メタノール: 酢酸: 水 = 50: 25: 8: 4 (容積比))で分離した。R_f値0.90付近の脂肪酸成分のスポットを分取してメタノールで抽出した。この脂肪酸成分を常法によりメチルエステル化した後ガスクロマトグラフィーで分析した結果、標品のアジピン酸ジメチルエステルと同じピークが93.8%の純度で得られた。

以上の分析結果より、1-ラウロイル-2-(5-カルボキシル)ペンタノイル-3-グリセロ

アゼライン酸のかわりにアジピン酸(純度99%)780mgを、また1-パルミトイル-3-グリセロホスホリルコリンのかわりに1-ラウロイル-3-グリセロホスホリルコリン 530mgを用いた以外は、実施例1に述べた方法と同様の条件で反応させ、シリカゲル薄層クロマトグラフィーで分離した。そしてR_f値0.48のスポットを分取し、メタノールで抽出した。

以下、実施例1に述べた方法と同様の方法で操作して、パウダー状の1-ラウロイル-2-(5-カルボキシル)ペンタノイル-3-グリセロホスホリルコリン 195mg(収率28.4%)を得た。

マスマスベクトル、赤外スペクトル及び元素分析の結果は次の通りであった。

マスマスベクトル(m/z): 568 (M⁺ + H)

赤外スペクトル: 2900cm⁻¹ (カルボキシルOH伸縮振動)

元素分析: C₄₂H₈₂O₁₀Pとして

(計算値): C 55.03%, H 8.82%,

N 2.47%, P 5.47%

ホスホリルコリンが合成されていることが確かめられた。

比較例1

無水トリフルオロ酢酸を用いなかった外は実施例1に述べた方法と同様に操作したが、1-パルミトイル-2-(8-カルボキシル)オクタノイル-3-グリセロホスホリルコリンは得られなかった。

特許出願人 日本油脂株式会社
代理人 弁理士 舟橋 榮 子

